Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. K. Bernhard

Zur Frage der Aktivierbarkeit von Pepsin und Kathepsin durch Cyanwasserstoff und Schwefelwasserstoff

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von
Zeno Ramer
von Walenstadt

Verlag Walter de Gruyter & Co.

Berlin 1954

Von der medizinischen Fakultät Basel
genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. E. Freudenberg

Tag der Promotion: 5. Juli 1951

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Erschienen in Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie
Bd. **296**, S. 73—78 [1954]

Sonderabdruck aus Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiolog. Chem. 296. Bd. (1954)

Zur Frage der Aktivierbarkeit von Pepsin und Kathepsin durch Kaliumcyanid und Schwefelwasserstoff*

Von

Z. Ramer

(Der Schriftleitung zugegangen am 30. Oktober 1953)

Die beiden Fermentgruppen peptischer und katheptischer Wirkung werden durch verschiedene Kriterien voneinander unterschieden.

Die katheptischen Fermente lassen sich, wie schon lange bekannt ist, durch das Cyan-Ion oder durch Verbindungen mit freier Sulfhydrylgruppe aktivieren. Wiss[1] gelang es nachzuweisen, daß unter bestimmten Bedingungen auch reines Pepsin durch Blausäure aktiviert werden kann.

Nach dem Ort ihrer Wirksamkeit bezeichnet man die peptischen Fermente als Ektofermente, die katheptischen als Endofermente. Die ersteren werden sezerniert, letztere wirken in der Zelle selbst. In grundlegenden Untersuchungen haben Freudenberg und Buchs[2] nachgewiesen, daß beim Menschen und auch bei vielen Tierarten Kathepsin im Magen zur Wirkung gelangt.

Somit kann weder die Verschiedenheit des Ortes, der Wirksamkeit, noch das Verhalten gegenüber Blausäure als sicheres Kriterium zur Differenzierung dieser beiden Enzymgruppen herangezogen werden. Das gleiche gilt bis zu einem gewissen Grade auch für die Lage des p_H-Optimums. Springer[3] hat gezeigt, daß das p_H-Optimum des Kathepsins deutlich vom Substrat abhängig ist.

Merten und Ratzner[4] sowie Buchs[5] haben die Ergebnisse von Wiss[1] insofern angezweifelt, als sie vermuten, daß die Aktivierung des Pepsins auf Verunreinigungen mit Kathepsin zurückzuführen ist. In den folgenden Untersuchungen wurden die Aktivierbarkeit von Pepsin und Kathepsin in anderer Versuchsanordnung geprüft. Neben Blausäure wurde auch Schwefelwasserstoff als Aktivator herangezogen.

---

* Die Arbeit wurde 1948/49 im Physiolog.-chem. Institut der Universität Basel eingeführt.

[1] O. Wiss, Helv. chim. Acta **29**, 237 [1945].

[2] E. Freudenberg u. S. Buchs, Schweiz. med. Wschr. **70**, 249 [1940]; S. Buchs, diese Z., im Druck.

[3] G. F. Springer, Biochem. Z. **321**, 107 [1950].

[4] R. Merten u. H. Ratzner, Klin. Wschr. **27**, 587 [1949].

[5] S. Buchs, Die Biologie des Magenkathepsins, Karger, Basel, New York 1947.

Beim Pepsin (Parke Davis) liegt das p_H-Optimum im gleichen p_H-Bereich. Die Aktivität ist entsprechend dem größern Reinheitsgrad höher. In kleinen Konzentrationen ist im Bereich von p_H 4—4,5 ein zweites Optimum leicht angedeutet.

Tab. 3. Wie Tab. 2, unter Verwendung von Pepsin (Parke Davis) 1:10000.

p_H	Pepsin pro Ansatz		
	0,5 mg	0,25 mg	0,125 mg
0,52	5,5*	3*	0,5*
0,85	14	6,5	2
1,18	21	9	4
1,30	22	9	5
1,48	21	8	4,5
1,78	16,5	6,5	3,5
2,28	10	4	1,5
2,76	9,5	4	0,5
3,70	8	5	1,5
4,68	8	5	2,5
5,12	8	4	2
5,52	8	3	1

* γ Hystidin pro ccm Filtrat.

2. Aktivierung durch Cyan-Ion

In seiner früheren Arbeit hat Wiss[1] darauf hingewiesen, daß die Aktivierung des Pepsins insofern von dem Enzym abhängig ist, als sie sich nur bei kleineren Enzymmengen nachweisen läßt. Bei großen Enzymkonzentrationen ließ sich sogar eine Hemmung beobachten. Dieser Befund ließ sich bestätigen. Der Kathepsinanteil erfährt durch Blausäure bei allen Konzentrationen eine starke Aktivierung. Bei hohen Konzentrationen kommt es somit zu einer Verschiebung des p_H-Optimums gegen die alkalische Seite (Abb. 1); bei kleinen Konzentrationen entsteht eine ausgeprägt 2-gipflige p_H-Optimumskurve (Abb. 2 und 3).

Tab. 4. Wie Tab. 2, jedoch unter dem Einfluß von Kaliumcyanid.

p_H	2 mg Pepsin		1 mg Pepsin		0,5 mg Pepsin	
		$m/200$-KCN		$m/200$-KCN		$m/200$-KCN
0,52	6	1,5*	2*	8*	0*	8*
0,85	13	3,5	4	9	2	9,5
1,18	18	5	6,5	10	3,5	10,5
1,30	18,5	6	7	10	4	11
1,48	18	7	6	10	3,5	11
1,78	15	13,5	5	9	2,5	10
2,28	9,5	10	3	8,5	1	9,5
2,76	7	10,5	2	9	0,5	10
3,70	7,5	12,5	2	11,5	0	11
4,68	8	14	2	12	0	10,5
5,12	7,5	13	2	11,5	0	10
5,52	7	12	2	10	0	9

* γ Hystidin pro ccm Filtrat.

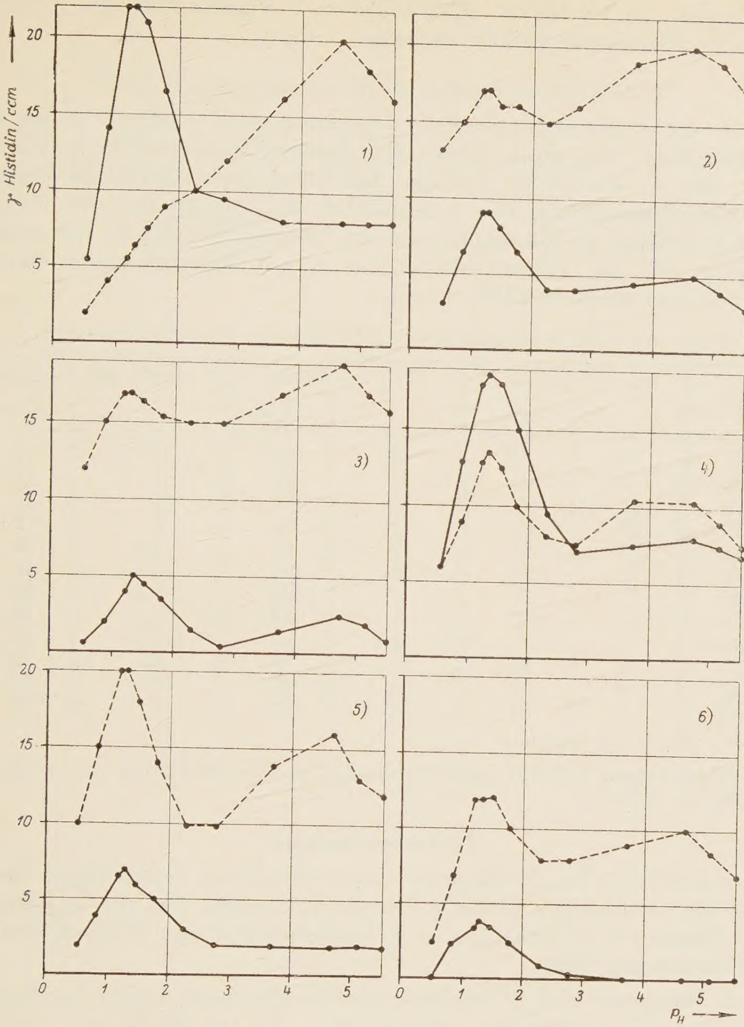

Abb. 1—6. p_H-Abhängigkeit der Aktivität von Pepsin (gemessen in γ Histidin/ccm Filtrat) und deren Beeinflussung durch Aktivatoren.

Abb.	Pepsin		Ausgezogene Kurve	Gestrichelte Kurve
	Präparat	mg/Ansatz		
1	Parke Davis	0,5	ohne KCN	mit $m/200$-KCN
2	Parke Davis	0,25	ohne KCN	mit $m/200$-KCN
3	Parke Davis	0,125	ohne KCN	mit $m/200$-KCN
4	Siegfried	2,0	ohne H_2S	mit H_2S
5	Siegfried	1,0	ohne H_2S	mit H_2S
6	Siegfried	0,5	ohne H_2S	mit H_2S

Pepsin Parke Davis (Abb. 1—3) und Pepsin Siegfried (Tab. 4) zeigen im Prinzip das gleiche Verhalten.

3. Aktivierung durch Schwefelwasserstoff

Die Versuchsansätze wurden zu diesem Zwecke während der ganzen Versuchsdauer mit einem schwachen Schwefelwasserstoffstrom durchperlt. Abb. 4—6 und Tab. 5 zeigen, daß Schwefelwasserstoff die Pepsin- und Kathepsinwirkung der untersuchten Pepsinpräparate im Prinzip gleich beeinflußt wie Blausäure, mit dem Unterschied, daß die hemmende Wirkung auf die Pepsinaktivität bei hohen Enzymkonzentrationen schwach ausgeprägt ist (Abb. 4—6).

Tab. 5. Wie Tab. 3, jedoch unter dem Einfluß von Schwefelwasserstoff.

p_H	0,5 mg Pepsin		0,25 mg Pepsin		0,125 mg Pepsin	
		H_2S		H_2S		H_2S
0,52	5*	5*	3*	12*	0,5*	12
0,85	14	12	6	22	2	16
1 18	21	20	9	24	4	18
1,30	22	21	9	25	5	18
1,48	21	24	8	25	4,5	19
1,78	16	24	6,5	24	3,5	18
2,28	10	22	4	23	1,5	16
2,76	10	22	4	23	0,5	18
3,70	8	27	4,5	27	1,5	23
4,68	8	33	5	30	2,5	19
5,12	8	32	4	30	2	23
5,52	8	32	3	27	1	22

* γ Histidin pro ccm Filtrat.

Herrn Dozent O. Wiss danke ich für Rat und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Zusammenfassung

1. Käufliche Pepsinpräparate (Pepsin Siegfried, Pepsin Parke Davis, 1 : 10 000) enthalten erhebliche Mengen Kathepsin, das sich jedoch nur nach Zusatz von Aktivatoren, z. B. Kaliumcyanid oder Schwefelwasserstoff nachweisen läßt.

2. Blausäure und Schwefelwasserstoff aktivieren, wenn das Enzym in geringer Konzentration vorliegt, nicht nur das Kathepsin, sondern auch den Pepsinanteil.

3. Der Verlauf der aktivierten Kurve über einen größern p_H-Bereich zeigt eindeutig, daß die Aktivierung des Pepsinanteils nicht auf Verunreinigung mit Kathepsin zurückgeführt werden kann.

4. In großen Enzymkonzentrationen hemmt Kaliumcyanid den Pepsinanteil, während der Kathepsinanteil aktiviert wird. Die Hemmung durch Schwefelwasserstoff ist wenig ausgeprägt.